

## University of Groningen

### RNA-Synthese in hanelever

Coolsma, Jan Willem Theodoor

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

1966

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Coolsma, J. W. T. (1966). *RNA-Synthese in hanelever*. s.n.

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## SAMENVATTING

Fosvitine, een dooiereiwit, wordt gesynthetiseerd in de lever van leggende hennen; onder invloed van oestradiol wordt het echter ook gemaakt door niet-leggende kippen en door hanen, die dit onder normale omstandigheden nooit doen. In verband met een parallel onderzoek van de synthese van fosvitine onder invloed van oestradiol werd de RNA-synthese in hanelever in vivo bestudeerd.

RNA werd uit de lever geëxtraheerd door homogeniseren in een mengsel van fenol en isotone zoutoplossing met EDTA. Wanneer dit bij lage temperatuur geschiedde ging de cytoplasmatische RNA in oplossing, terwijl de celkernen zich verzamelden in de interfase tussen water- en fenollaag. Uit deze "fenolkernen" werd RNA geëxtraheerd door met hetzelfde mengsel achtereenvolgens tot 45° en 65° te verwarmen, en tenslotte door verwarmen tot 65° met hetzelfde mengsel met toevoeging van bentoniet en 1% natriumdodecylsulfaat. Alleen in de laatste fractie was ook DNA aanwezig, maar deze kon worden verwijderd door behandeling met DNase. Zodoende werden vier verschillende RNA-fracties verkregen; deze werden bestudeerd door sedimentatieanalyse in suikergradiënten, basenanalyse, merking met radioactief fosfaat in vivo, en door hun invloed op de aminozuurincorporatie in een celvrij systeem.

De cytoplasmatische RNA-fractie bevat slechts ribosomale en transfer-RNA; andere soorten RNA konden met de genoemde methoden niet in deze fractie worden aangetoond. De incorporatie van radioactief fosfaat in cytoplasmatische ribosomale RNA was na merking gedurende korte tijd veel lager dan de incorporatie in de andere drie fracties. De 45°-fractie bestaat kennelijk uit ribosomale en transfer-RNA uit de kernen; na merking gedurende 30 minuten was radioactief fosfaat geïncorporeerd in twee duidelijke zware pieken die voorstadia van ribosomale RNA zouden kunnen zijn. De 65°-fractie is een mengsel van 18S-RNA die ribosomaal zou kunnen zijn, en polydisperse RNA met sedimentatieconstanten van 5 tot 50S. De RNA geëxtraheerd met SDS is waarschijnlijk niet principieel verschillend van de 65°-fractie. In deze beide laatste fracties was meer snelgemerkte RNA aanwezig dan in de 45°-fractie. Na merking gedurende 30 minuten in vivo hadden de subfracties van de 65°- en de SDS-RNA-fractie met de hoogste radioactiviteit een basensamenstelling met veel A en U; deze verliep echter in de loop van enkele uren naar de normale samenstelling met veel

G en C. De 65°-fractie stimuleerde de aminozuurincorporatie in ribosomale systemen zowel uit *E.coli* als uit rattelever. De RNA-fracties die bij de lagere temperaturen werden geëxtraheerd stimuleerden veel minder sterk; de SDS-RNA-fractie werd op dit punt niet onderzocht.

Het is op het ogenblik nog onmogelijk de aanwezigheid van messenger-RNA in een fractie met zekerheid vast te stellen; volgens de gebruikelijke - onvoldoende - criteria komt hij voornamelijk in de 65°- en de SDS-RNA-fractie terecht.

Na behandeling van hanen gedurende 20 uur met oestradiol en incorporatie van radioactief fosfaat *in vivo*, waren alle RNA-fracties sterker gemerkt dan de overeenkomstige fracties uit de controle-hanen; er werden echter geen effecten waargenomen op sedimentatie-eigenschappen, hoeveelheden of basensamenstellingen. Verder onderzoek zal nodig zijn om de effecten van oestradiol op de RNA-stofwisseling duidelijker vast te kunnen stellen en te verklaren.

## SUMMARY

The avian yolk protein, phosvitin is synthesized in the liver of laying hens; its production is induced by estradiol in non-laying chickens and also in roosters, which normally do not produce phosvitin in their livers. In parallel with a study of hormone-induced phosvitin synthesis, RNA synthesis in rooster liver *in vivo* was investigated.

Liver RNA was extracted by homogenization in a mixture of phenol and saline containing EDTA. By carrying out this procedure at low temperature cytoplasmic RNA was solubilized while the cell nuclei accumulated at the interphase between water and phenol layers. From these "phenolic nuclei" RNA was extracted by heating successively to 45° and 65° with the same mixture and finally by heating to 65° with the same mixture in the presence of 1% sodium dodecyl-sulfate and bentonite. Only this last fraction was contaminated with DNA; this could be removed by DNase treatment. In this way four different RNA fractions were obtained which were studied by sedimentation analysis in sucrose gradients, base composition analysis, labeling with radioactive phosphate *in vivo*, and by their effect on amino acid incorporation in a cell-free system.

The cytoplasmic RNA fraction consists of ribosomal and transfer RNA; no other RNA species could be detected in this fraction by the methods mentioned. After labeling during short periods the incorporation of radioactive phosphate in cytoplasmic ribosomal RNA was much lower than in RNA of the other three fractions. The 45° fraction possesses all characteristics of nuclear transfer and ribosomal RNA; after labeling for 30 minutes incorporation into two distinct heavy peaks that may be ribosomal RNA precursors was observed. The 65° fraction is a mixture of ribosomal-like 18S RNA and polydisperse RNA with sedimentation constants ranging from 5 to 50S. The RNA extracted with SDS probably is not fundamentally different from the 65° fraction. These two fractions contain more radioactivity in rapidly labeled RNA than the 45° fraction. After labeling *in vivo* for 30 minutes the subfractions with the highest radioactivity in the 65° and SDS-RNA fractions have an AU-rich base composition which shifts to the normal GC-rich composition within a few hours. The 65° fraction stimulated amino acid incorporation in both an *E. coli* and a rat-liver ribosomal system. The RNA extracted at lower temperatures had much less stimulating activity; the SDS-RNA fraction was not tested.

The localization of the messenger RNA cannot at present be determined with certainty; according to the usual - insufficient - criteria it might be largely confined to the 65<sup>0</sup> and SDS-RNA fractions.

After treatment with estradiol for about 20 hours and incorporation of radioactive phosphate in vivo, all RNA fractions were more strongly labeled than the controls, but no effects on sedimentation properties, quantities, or base composition were observed. Further -more successful- analysis of the effects of estradiol on RNA metabolism in rooster liver remains for future investigation.